

Horizontális génátvitel elemzése folyami üledékben

Kiss Benigna, Vargha Márta és Márialigeti Károly

*Eötvös Loránd Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék
1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C
E-mail: kiss.benigna@freemail.hu, mikrobi@ludens.elte.hu*

Összefoglaló: A horizontális génátvitel spontán, természetes folyamat elsősorban a baktériumok és az ősbaktériumok körében, de magasabbrendű élőlények között sem ismeretlen. A genetikailag módosított szervezetek szabadba kerülésével súlyos problémákat okozhat a mesterséges gének laterális szétterjedése, károsítva akár eukarióta fajok génállományát is. Ugyanakkor még igen kevésbé ismert bioremediációs lehetőségek tárulhatnak elénk adott idegen anyagokat lebontó gének, akár egész operonok horizontális transzferének felhasználásával. Munkánk során a tetraciklin rezisztencia gén terjedését vizsgáltuk folyami üledékben, melyben eddig ilyen jellegű kutatások még nem történtek. A dunai üledékben a horizontális génátvitel jelenségét megfigyeltük, bár az megállapítható, hogy a donor szervezet állandó magas csfraszáma ehhez elengedhetetlen. Az itt nyert tapasztalatokat később xenobiotikum lebontást lehetővé tevő gének laterális terjedésének vizsgálatában szeretnénk felhasználni.

Kulcsszavak: *Escherichia coli* XL1-Blue törzs, folyami üledék, horizontális géntranszfer, tetraciklin rezisztencia

Bevezetés

Az élőlények szaporodása során az örökítőanyag nemzedékről nemzedékre, tehát vertikálisan adódik át. Létezik azonban a génátadásnak egy másik, kevésbé ismert módja is, amelynek során a genetikai anyag akár különböző fajok között is cserélődhet. Ez a horizontális génátvitel, amely spontán előforduló, természetes folyamat az élővilágban. A baktériumok (Bacteria) és az ősbaktériumok (Archea) körében, ahol a szexuális szaporodás nem ismert, és így a reprodukciós rekombináció nem lehetséges, elsődleges szerepe van a genetikai változatosság fenntartásában (Christensen *et al.* 1998). A legújabb kutatások azonban azt mutatják, hogy magasabbrendű szervezetek között is előfordul. Mi több, megfigyelték olyan eseteket, amikor a gének átadása származástaniilag igen távol álló csoportok (pl. ősbaktériumok és baktériumok, vagy baktériumok és magasabbrendű növények, állatok stb.) között megy végbe (pl. de la Cruz & Davies 2000).

A horizontális géntranszfer természetvédelmi szempontból összetett jelentőséggel bír. A genetikailag módosított szervezetek (GMO) esetében – legyen az akár rekombináns talajjoltó baktérium, vagy gén-manipulált szója – nagy kockázatot jelenthet, mivel elősegítheti a mesterségesen létrehozott gének szétterjedését. A

patogén baktériumok esetében mind a betegség kiváltásáért felelős (ún. virulencia faktorokat kódoló), mind az antibiotikum rezisztencia gének átadódhatnak horizontálisan a különböző fajok között (Lisle & Rose 1995). Ugyanakkor rendkívül nagy jelentőségű eszköze lehet egyes talaj- és vízszennyezések (pl. kőolaj, vegyipari melléktermékek, növényvédő szerek okozta szennyezés) mesterségesen felgyorsított bioremediációjában (Mai *et al.* 2001). A környezetidegen anyagok (ún. xenobiotikumok) mikrobiális lebontásáért felelős gének gyakran helyezkednek el mobilis genetikai elemeken (pl. plazmidon), és így átadódhatnak a különböző fajok között. Jelenlegi ismereteink szerint ez a mechanizmus fontos szerepet játszik a szennyezések természetes mikrobiális közösségek által végzett lebontásában (van der Meer *et al.* 1992). Megfigyelték többek között naftalin, klorokatechin, diklóropropán, a 2,4-diklorofenoxiacetsav (2,4-D) herbicid biodegradációjában résztvevő enzimek átvitelét (Herrick *et al.* 1997, Stuart-Keil 1998, Tirola *et al.* 2002).

Az új DNS három különböző mechanizmussal juthat be a baktériumsejtbe. Az egyik mód, a legáltalánosabb transzformáció, amelynek során a sejt környezetéből vesz fel csupasz, általában rövid, kétszálú DNS darabokat, tekintet nélkül azok eredetére (Lorenz & Wackernagel 1994). A második mód – a konjugáció – során mobilis genetikai elemek, plazmidok vagy transzpozonok átvitele történik (Nielsen *et al.* 1994). Ez a folyamat sejt-sejt kontaktust igényel a donor és a recipiens között, de végbemehet nem rokon baktériumok, vagy akár prokarióta és eukarióta sejtek között is, és lehetőség van hosszabb nukleinsav szakaszok átadására. A harmadik lehetőség a transzdukciónak, melynek során a transzfert fágok végzik, vagyis az átvihető DNS mérete a vírus fejének nagyságától függ. A potenciális donort és recipienst a fág gazdaspecificitása határozza meg, a sejteknek nagyon hasonló fágfelismerő, ill. -kötő hellyel kell rendelkezniük. Így ez a mechanizmus elsősorban közel rokon baktériumok között jellemző (Jiang & Paul 1998).

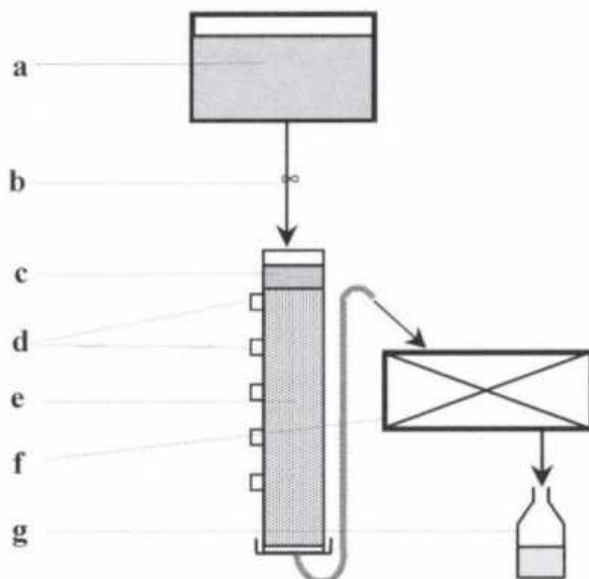
A laterális génátvitel optimális körülményeiről ellentmondóak a vélemények. Egyes szerzők szerint (Dröge *et al.* 1999) azonos a talajbaktériumok növekedésének legkedvezőbb feltételeivel (hőmérséklet, pH és tápanyagtartalom), míg mások (pl. Nielsen *et al.* 1994) épp az extrém hatások (pl. hősokk, higanyszennyezés) indukciós szerepét hangsúlyozzák. Abban azonban minden szerző egyetért, hogy a szelekciós nyomás elsődleges fontosságú. Vagyis abban az esetben fog idegen fajoktól származó genetikai anyag fennmaradni és továbbörökítődni, ha a géntranszfer következtében módosuló fenotípus előnyös valamely környezeti tényezőhöz való adaptációban. Ilyenek például az antibiotikum rezisztencia gének, vagy szennyezett területen az idegen anyagok lebontását lehetővé tevő géncsoportok is (Nielsen *et al.* 1994). A transzfer szempontjából az előbbieket kedvezőbb helyzetben vannak, mivel általában kisméretű és nagy kópiaszámú plazmidon kódoltak, míg az utóbbiak plazmidja lényegesen nagyobb, és egy sejtben csak 1–3 példánya

van jelen (Christensen *et al.* 1998). Elősegítik továbbá a transzfert mindazon helyek, ahol nagyszámú baktérium van jelen. Ilyen „forró zóna” (hot-spot) pl. a talajlakó élőlények külső és belső testfelszíne, a gyökerek és levelek felszíne, de legalábbis közelsége (Daane & Haggblom 1999, Kidambi *et al.* 1994).

A jelen vizsgálat célja annak felmérése volt, hogy folyami üledékben van-e lehetőség horizontális génátvitelre, az milyen sebességgel, és milyen körülmények között megy végbe. Ilyen felmérés korábban, ismereteink szerint, nem történt ebben a közegben. A végső célkitűzés a lebontó gének terjedésének és bioremediációs lehetőségének kimutatása, azonban a könnyebb kezelhetőség és detektálás miatt első lépésben plazmidon kódolt antibiotikum rezisztencia génnel vizsgáltuk a folyamatot.

Módszerek

A kísérleteket egy parti szűrősű kutat modellező laboratóriumi mikrokozmoszban végeztük (1. ábra). (A modell összeállításánál Clerck és Simonet (1998) által leírt tapasztalatokat használtuk fel.) A modellrendszer természetes, a Szentendrei-sziget északi részén vett dunai kavicsüledék magmintát (mintegy 12 cm át-



1. ábra. A dunai üledékoszlopot tartalmazó laboratóriumi modellrendszer sematikus rajza. (Vargha *et al.* 2000 alapján) (a – víztartály, b – szabályozható befolyó, c – víz szintje az üledék felett, d – oldalkifolyók, e – üledékoszlop, f – perisztaltikus pumpa, g – kifolyó mintagyűjtő).

mérőjű, 80 cm-es üledékoszlopot) tartalmazott, átáramoltatása natív Duna-vízzel történt. A vizsgálat során egyrészt a modellt teljes hosszán átszűrte vízből, a végkifolyón át (1. ábrán 'K'), másrészt az üledékoszlop oldalán kialakított mintavevő nyílásokon át (1. ábrán 2–5), a modell belsejében levő vízből vettünk mintát.

Donor szervezetként az *Escherichia coli* XLI-Blue törzset alkalmaztuk, ami plazmidján tetraciklin rezisztencia gént hordoz. A törzset egy éjszakán át folyadékultúrában felszaporítottuk. Első alkalommal ennek 5 mL-ét vittük fel az üledékoszlopra, majd 6 héten keresztül figyeltük a géntranszferen átesett baktériumok megjelenését. A későbbiekben változtattunk a terhelés módján, és a donor szervezet 1–1 mL-ét adagoltuk háromnaponta az oszlopra, miközben újfent 6 héten keresztül figyeltük a hatást.

Mintavételezés mindkét terhelési mód mellett először a kísérletsorozat előtt közvetlenül, majd rögtön az első inokulációt (donorbevitt) követően, ezután egy héten át 24 óránként történt. Végül ritkított rendszerességgel, hetente.

Tenyésztes és molekuláris módszerekkel vizsgáltuk, hogy a géntranszfer végbement-e. A vízmintákból 3 párhuzamosban 100 μ L-t szélesztettünk 40 μ g/L tetraciklin tartalmú szilárd tápagra, majd 28°C-n 48 óráig inkubáltuk. Így a tápagon felnevelő tetraciklin rezisztens szervezetek közvetlenül észlelhetők. A tetraciklin rezisztens koliform telepeket (amelyek a bejuttatott *E. coli* donor törzsből származhattak) szelektív (ENDO) tápagon mutattuk ki, amelyen ezek fémesen irizáló, zöldes telepek formájában jelennek meg. A különálló, tiszta telepeket morfológiai szempontból jellemeztük (telep alakja, színe, állaga, a baktériumsejt alakja, mérete, Gram szerinti festődés, kataláz és oxidáz reakció), és ez alapján állapítottuk meg a donor szervezettől különböző, antibiotikum rezisztenciával bíró baktériumok jelenlétét.

A vízminták egy másik, 1 mL-es részletét 4 mL, 40 μ g/L tetraciklint tartalmazó táplevesbe pipettáztuk (3 párhuzamos használatával), majd ugyancsak 28 °C-n 48 óráig szaporítottuk.

Ezt követően a tenyészetből a sejteket centrifugálással üleptítettük, majd a felülúszót elöntöttük. Ha szemmel látható sejtömeget kaptunk, akkor abból enzimatikus feltárással és fenol-kloroformos extrakcióval DNS-t izoláltunk (Massol-Deya *et al.* 1995). Ezt követően a fajra jellemző 16S rDNS szakaszt polimeráz láncreakcióval (PCR) felszaporítottuk, majd restriktív enzimekkel (azaz speciális bázissorrend mellett hasító DN-áz enzimekkel) emésztettük, ARDRA módszerrel (Martinez *et al.* 2001, Massol-Deya *et al.* 1995). A két alkalmazott restriktív enzim: Hin 6 I. és Taq I. Az így kapott DNS darabokat agaróz gélben gélelektroforézissel választottuk el. A hasítási mintázat alapján megkülönböztethetők a csak az eredeti donor szervezetet, illetve az emellett más baktériumokat is tartalmazó minták.

Eredmények

Az üledékben eredendően jelenlevő antibiotikum rezisztens szervezetek vizsgálata során ampicillin, kanamicin és tetraciklin hatását vetettük össze. Az utóbbi volt az egyetlen, amely esetében nem volt kimutatható rezisztens baktérium a natív oszlopban, így ezt használtuk a további vizsgálatok során.

Az első megfigyeléssorozatban kapott eredményeket (azaz egyszeri 5 mL-nyi 24 órán át táplevesben felszaporított *E. coli* XL1-Blue tenyészet bejuttatását követően) az 1. táblázat összegzi. Látható, hogy lemezre történő szélesztés esetében rezisztens szervezeteket az 1 órás mintában a 2. oldalkifolyónál észleltünk először, majd folyamatosan egyre lejjebb az üledékoszlopban. 48 óra után tetraciklin rezisztens szervezet ezzel a technikával nem volt kimutatható. A folyadékkultúrák tenyésztés során már 1 óra elteltével valamennyi mintavételi pontról (2., 3., 4., 5. oldalkifolyó, valamint a K-val jelzett végkifolyó) származó mintában volt szaporodás, amely a végkifolyóban az inokulációt követő 4. napig észlelhető volt. A vizsgálat során a tápagar lemezeken kinőtt telepek morfológiai szempontból homogénnek, és egyöntetűen koliformnak bizonyultak. A folyadékkultúrákból izolált teljes genomi DNS felszaporítása, majd hasítása után, a donor törzs mintájával együtt megfuttatva az ARDRA mintázatot vizsgáltuk (2. ábra). Az *E. coli* XL1-Blue törzsrre jellemző sávokon kívül új mintázat nem volt észlelhető.

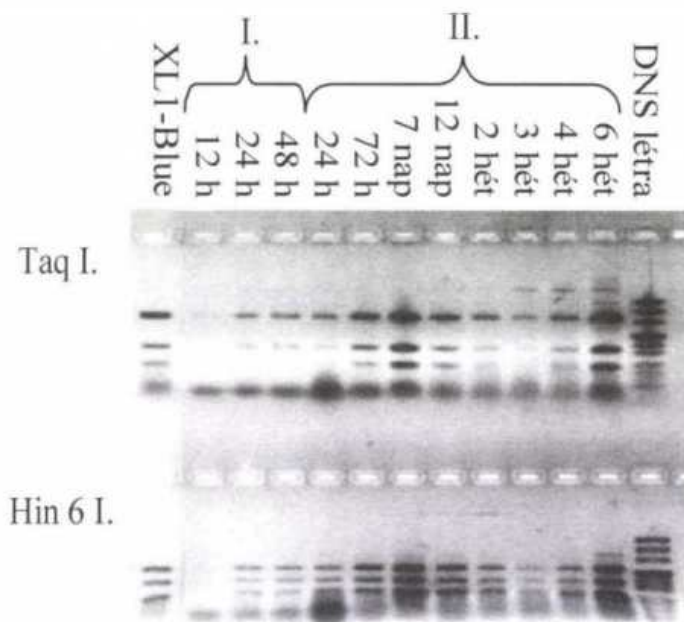
1. táblázat. Az első kísérletsorozat során (egyszeri, 5 mL donor *E. coli* törzs bejuttatását követően) kitenyészthető tetraciklin rezisztens szervezetek száma a dunai üledéket tartalmazó oszlopból kifolyó vízmintákban (2., 3., 4., 5. – oldalkifolyók, K – végkifolyó). A táblázat csak a megfigyelési idő első hetét mutatja, mivel később nem voltak jelen rezisztens szervezetek.

Mintavétel időpontja a donor bejuttatása	Telepszám tetraciklin tartalmú táplemezen (koliform/összes)					Szaporodás tetraciklin tartalmú táplevesben				
	Minta származása					2.	3.	4.	5.	K
	2.	3.	4.	5.	K					
előtt	0	0	0	0	0	–	–	–	–	–
után 1 órával	49/49	15/15	0	0	0	+	+	+	+	+
után 12 órával	4/4	37/37	5/5	74/74	31/31	+	+	+	+	+
után 24 órával	0	0	0	0	50/51	+	+	+	+	+
után 36 órával	0	0	0	0	20/20	+	+	+	+	+
után 48 órával	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
után 3 nappal	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
után 4 nappal	0	0	0	0	0	–	–	–	+	+
után 5 nappal	0	0	0	0	0	–	–	–	–	–
után 6 nappal	0	0	0	0	0	–	–	–	–	–
után 7 nappal	0	0	0	0	0	–	–	–	–	–

A második megfigyeléssorozatban megváltoztattuk a donor törzs bejuttatásának mintázatát, így rendszeresen, három naponta juttattunk be belőle, mivel az irodalmi adatok alapján (pl. Barkay *et al.* 1995) a mikrokozmoszban a donor törzs nagy csíraszama elengedhetetlen a sikeres géntranszferhez.

A minták feldolgozása során a fentivel megegyező módon párhuzamosan alkalmaztuk a kétféle megközelítést a tetraciklin rezisztens szervezetek kimutatására. A nagy mintaszám miatt (és mivel a további adatsorok a bemutatotthoz képest nem hordoznak többletinformációt) csak néhány kiemelt példát mutat a 2. táblázat. A tápagar lemezeken ingadozó számban észleltünk telepeket, míg a folyadékkultúrában többnyire volt szaporodás. A nem koliform szervezetek nagyobb számban kb. 6 héttel a folyamatos inokuláció kezdetét követően jelentek meg. A folyadékkultúrák elemzése alátámasztotta a fenti megfigyeléseket. Míg a korábbi minták ARDRA mintázata megfelelt a donor *E. coli* törzsének, a 3. és 4. héten vett mintában két, a 6. héten vett mintában pedig 4 új sávot találtunk (2. ábra).

Az említett 6. heti mintavétel során összesen 17 törzset izoláltunk, amelyek 5 morfológiai csoportba sorolhatóak, ezek közül csak kettő mutatott koliform jelleget szelektív tápagon. Három csoport Gram-negatív, kettő Gram-pozitív festődésű. Faji szintű azonosításuk jelenleg még folyamatban van.



2. ábra. A vízmintákból felszaporított folyadékkultúra 16S rDNS restrikciós hasítási képe (ARDRA). I. Egyszeri inokulációt követő változás (első kísérletsorozat). II. Folyamatos terhelés során (második kísérletsorozat) időben bekövetkező közösségi összetétel-változás.

2. táblázat. A második kísérletsorozat során (3 naponta, 1 mL donor *E. coli* törzs bejuttatása mellett) kitenyészethető tetraciklin rezisztens szervezetek száma a dunai üledéket tartalmazó oszlopból kifolyó vízmintákban (n.m. – nem történt mintavétel). A táblázat csak néhány kiemelt példát mutat.

Mintavétel időpontja az első inokuláció	Telepszám tetraciklin tartalmú táplemezen (koliform/összes)					Szaporodás tetraciklin tartalmú táplevesben				
	Minta származása									
	2.	3.	4.	5.	K	2.	3.	4.	5.	K
napján	24/24	3/3	0	9/9	8/8	+	+	+	+	+
után 7 nappal	12/12	7/7	9/9	14/14	1/1	+	+	+	+	+
után 12 nappal	32/32	0	4/4	21/22	1/1	+	+	+	+	+
után 19 nappal	84/87	64/69	31/37	8/8	20/20	+	+	+	+	+
után 7 héttel	n. m.	n. m.	26/42	16/26	18/32	n. m.	n.m.	+	+	+

Értékelés

Megállapítható, hogy a dunai kavicsüledékben természetes körülmények között végbemege a mobilis genetikai elemek horizontális terjedése. A folyamatot már több közegben, többek között talajban (Clerck & Simonet 1998), folyóvízben (Coughter & Stewart 1989), tengervízben (Jiang & Paul 1998) stb. (pl. Dröge *et al.* 1999) kimutatták, de tudomásunk szerint folyami üledékről jelen munka szolgáltatja az első információt. A folyamathoz a donorsejt állandó jelenléte és nagy csíraszámú szükségessége.

A tetraciklin rezisztens szervezetek kimutatása során a klasszikus tenyésztési eljárások közül a folyadék kultúrában történő tenyésztés érzékenyebbnek bizonyult, mivel szaporodás akkor is kimutatható volt benne, amikor a másik, a táp-agaron való tenyésztés, még eredménytelen volt. A molekuláris eljárás még az előbbinél is érzékenyebb és megbízhatóbb.

Az első kísérletsorozat tenyésztési eredményei alapján már feltételezhető volt, hogy az alkalmazott egyszeri inokuláció után elsősorban a donor szervezetet izoláltuk vissza, melyet a molekuláris munka során készített restriktions hasítási mintázat is alátámasztott, vagyis ezen mintákban az inokuláló szervezeten kívül valóban nem volt jelen más tetraciklin rezisztens szervezet kimutatható mennyiségben. Az is megállapítható volt, hogy egyszeri inokuláció esetén néhány nap alatt maga a donor szervezet mennyisége a kimutatási határ alá csökken, kimosódik az oszlopból.

Ezzel szemben, amikor a második kísérletsorozatban az oszlopban állandó és nagy csíraszámú donorszervezetet biztosítottunk, a tetraciklin rezisztens szervezeteket folyamatosan ki tudtuk mutatni tenyésztési eljárással is. Mivel mind az inokulum, mind a befolyó víz azonos volt a korábbiakkal, a különböző tetraciklin rezisztens szervezetek megjelenése egyértelműen a horizontális géntranszfernek tulajdonítható.

Ez a megfigyelés az esetleges későbbi bioremediációs felhasználás során lényeges lehet. A géntranszfer során módosult szervezetek száma és változatossága az idő előrehaladtával növekszik. A recipiens baktériumok fenotípusosan és feltehetően taxonómiai szempontból is sokfélék. További célunk a vizsgálatok kiterjesztése xenobiotikum-bontó plazmidok terjedésére, valamint az így módosult szervezetek bioremediációs kapacitásának felmérése.

A vizsgált jelenség általános természetvédelmi jelentőségének felismerése még várat magára, de mivel az általunk vizsgált közeg humán egészségügyi szempontból is rendkívül fontos – hiszen a főváros ivóvízellátását biztosító parti szűrő-sű kutak mikrobiótájáról van szó – a megismert eredmények felhívják a figyelmet a baktériumpopulációk sebezhetőségére és védelmének fontosságára. Ez egy eddig igen elhanyagolt, de annál jelentősebb célpontja lehet a természetvédelemnek. A horizontális génteljesítés lehet hátrányos, mert elősegítheti nemkívánatos gének szétterjedését, ugyanakkor lehet előnyös is, mert biztosíthatja baktériumpopulációk túlélését, és mert felhasználható a bioremediációs munkákban.

Irodalomjegyzék

- Barkay, T., Kroer, N., Rasmussen, L. D. & Sørensen, S. J. (1995): Conjugal transfer at natural population densities in a microcosm simulating an estuarine environment. – *Microbiol. Ecol.* **16**: 43–54.
- Christensen, B. B., Sternberg, C., Andersen, J. B., Eberl, L., Møller, R. S., Giskov, M. & Molin, S. (1998): Establishment of new genetic traits in a microbial biofilm community. – *Appl. Environ. Microbiol.* **64**(6): 2249–2255.
- Clerck, S. & Simonet, P. (1998): A review of available systems to investigate transfer of DNA to indigenous soil bacteria. – *Antonie Van Leeuwenhoek.* **73**(1): 15–23. Review.
- Coughter, J. P. & Stewart, G. J. (1989): Genetic exchange in the environment. – *Antonie Van Leeuwenhoek.* **55**(1): 15–22. Review.
- Daane, L. L. & Haggblom, M. M. (1999): Earthworm egg capsules as vectors for the environmental introduction of biodegradative bacteria. – *Appl. Environ. Microbiol.* **65**(6): 2376–2381.
- de la Cruz, F. & Davies, J. (2000): Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. – *Trends in Microbiol.* **8**: 128–132.
- Dröge, M., Pühler, A. & Selbitschka, W. (1999): Horizontal gene transfer among bacteria in terrestrial and aquatic habitats as assessed by microcosm and field studies. – *Biol. Fert. Soils* **29**: 221–245.
- Herrick, J. B., Stuart-Keil, K. G., Ghiorse, W. C. & Madsen, E. L. (1997): Natural horizontal transfer of a naphthalene dioxygenase gene between bacteria native to a coal tar-contaminated field site. – *Appl. Environ. Microbiol.* **63**(6): 2330–2337.
- Jiang, S. C. & Paul, J. H. (1998): Gene transfer by transduction in the marine environment. – *Appl. Environ. Microbiol.* **64**(8): 2780–2787.
- Kidambi, S. P., Ripp, S. & Miller, R. V. (1994): Evidence for phage-mediated gene transfer among *Pseudomonas aeruginosa* strains on the phylloplane. – *Appl. Environ. Microbiol.* **60**(2): 496–500.
- Lisle, J. T. & Rose, J. B. (1995): Gene exchange in drinking water and biofilms by natural transformation. – *Water Sci. Technol.* **31**(5–6): 41–46.

- Lorenz, M. G. & Wackernagel, W. (1994): Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. – *Microbiol. Rev.* **58**(3): 563–602.
- Mai, P., Jacobsen, O. S. & Aamand, J. (2001): Mineralization and co-metabolic degradation of phenoxyalkanoic acid herbicides by a pure bacterial culture isolated from an aquifer. – *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**(3–4): 486–490.
- Martinez, B., Tomkins, J., Wackett, L. P., Wing, R. & Sadowsky, M. J. (2001): Complete nucleotide sequence and organization of atrazine catabolic plasmid pADP-1 from *Pseudomonas* sp. strain ADP. – *J. Bacteriol.* **183**(19): 5684–5697.
- Massol-Deya, A. A., Odelson, D. A., Hickey, R. F. & Tiedje, J. M. (1995): Bacterial community fingerprinting of amplified 16S and 16–23S ribosomal DNA gene sequences and restriction endonuclease analysis (ARDRA). – In: Akkermans, A. D. L., Elsas, J. D. & Bruijn, F. J. (eds): *Molecular microbial ecology manual*. Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 3.3.2: 1–8.
- Nielsen, J. W., Josephson, K. L., Pepper, I. L., Arnold, R. B., di Giovanni, G. D. & Sinclair, N. A. (1994): Frequency of horizontal gene transfer of a large catabolic plasmid (pJP4) in soil. – *Appl. Environ. Microbiol.* **60**(11): 4053–4058.
- Stuart-Keil, K. G. (1998): Plasmids responsible for horizontal transfer of naphthalene catabolism genes between bacteria at a coal tar-contaminated site are homologous to pDTG1 from *Pseudomonas putida* NCIB 9816-4. – *Appl. Environ. Microbiol.* **64**(10): 3633–3640.
- Tirola, M. A., Wang, H., Paulin, L. & Kulomaa, M. S. (2002): Evidence for natural horizontal transfer of the *pcpB* gene in the evolution of polychlorophenol-degrading Sphingomonads. – *Appl. Environ. Microbiol.* **68**(9): 4495–4501.
- van der Meer, J. R., de Vos, W. M., Harayama, S. & Zehnder, A. J. (1992): Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds. – *Microbiol. Rev.* **56**(4): 677–694.
- Vargha, M., Szabó, G. & Márialigeti, K. (2000): A dunai kavicságy biológiai szűrőképességének elemzése I. Laboratóriumi modellrendszer beállítása és jellemzése. – *Hidrológiai Közöny* **80**(4): 233–237.

Analysis of horizontal gene transfer in river sediment

Kiss, B., Vargha, M. and Márialigeti, K.

Department of Microbiology, Eötvös Loránd University
H-1186 Budapest, Pázmány P. sétány 1/C, Hungary

Abstract: Horizontal gene transfer is a spontaneous, natural process. It is primarily common among Bacteria and Archaea, but has also been found among more developed organisms. Serious hazards may occur when artificial genes spread laterally from genetically modified organisms (GMOs) in natural habitats, with the ability to ruin even eukaryotic gene-pools. However, the very same process, horizontal transfer of catabolic genes, or even that of complete operons may be put into practice for bioremediation, a method yet waiting to be developed. In our work horizontal transfer of tetracycline resistance gene was investigated in river sediment microcosm, which is a medium that has not been researched regarding this question until now. Horizontal gene transfer is reported in the Danube sediment in this work. It has been found that the presence of the donor organism in high numbers is inevitable for the process. The results derived here will be used later in research about transfer of catabolic genes that may be responsible for decomposing xenobiotics.

Key words: *Escherichia coli* XL1-Blue strain, horizontal gene transfer, river sediment, tetracycline resistance

